Lehrstuhl für Experimentelle Zahnheilkunde
(Vorstand: Professor Dr. F. Bramstedt)
an der Universitätsklinik und Poliklinik
für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Professor Dr. R. Naujoks)

Über den Einfluß sorbithaltiger Kost auf den Kariesbefall und auf quantitative Veränderungen sorbitabbauender Mikroorganismen im Speichel der Ratte

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Paul-Thomas Schneider
aus Bad Hersfeld

Würzburg 1970

Lehrstuhl für Experimentelle Zahnheilkunde
(Vorstand: Professor Dr. F. Bramstedt)
an der Universitätsklinik und Poliklinik
für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Professor Dr. R. Naujoks)

Über den Einfluß sorbithaltiger Kost auf den Kariesbefall und auf quantitative Veränderungen sorbitabbauender Mikroorganismen im Speichel der Ratte

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Paul-Thomas Schneider
aus Bad Hersfeld

Würzburg 1970

Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Büttner

Korreferent: Prof. Dr. F. Bramstedt

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion:

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0053

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1 Kariesbefall im Tierexperiment bei sorbithaltiger Kost	3
2.2 Quantitative Veränderungen sorbitabbauender Mikroorganismen	5
2.3 Synthese extrazellulärer Polysaccharide	8
3. Material und Methoden	9
4. Ergebnisse	20
5. Diskussion	28
6. Zusammenfassung	34
Summary	36
7. Literaturverzeichnis	37

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Wenn auch die Ätiologie der Zahnkaries bis heute noch nicht in allen Einzelheiten aufgeklärt ist, so bilden die niedermolekularen Kohlenhydrate einen ausschlaggebenden Kausalfaktor bei der Kariesentstehung (BRAMSTEDT 1967, 1968 a). Um dieses Risiko möglichst auszuschalten, müßte der Konsum an niedermolekularen Kohlenhydraten beträchtlich eingeschränkt werden, was aber eine generelle Ernährungsumstellung notwendig machen würde. Der Ersatz niedermolekularer Zucker durch andere süßschmeckende Substanzen liegt daher nahe. Von all diesen Stoffen hat man immer wieder auf das in der Diätetik schon lange benutzte Sorbit zurückgegriffen, da hier günstige Erfahrungen vorliegen und unerwünschte Nebenwirkungen gering sind (GÜLZOW 1968, SCHRAMM 1962).

Wesentlich für die Beurteilung einer Substanz als Zuckeraustauschstoff ist das Verhalten der Mundflora dieser Substanz gegenüber. Von Bedeutung ist einmal der Abbau des betreffenden Stoffes durch die Mikroorganismen der Mundhöhle unter Säurebildung und zum anderen die Frage der Synthese intrazellulärer bzw. extrazellulärer Polysaccharide (BRAMSTEDT 1968 b).

Im Tierexperiment konnte festgestellt werden, daß im Speichel der Ratte Mikroorganismen vorhanden sind, die auf sorbithaltigen Nährböden eine Säureproduktion verursachen wie auf Saccharosenährböden. Dennoch war bei der Ratte eine kariostatische Wirkung nach Zusatz von Sorbit anstelle von Saccharose zu verzeichnen (SHAW u. GRIFFITHS 1960).

In der vorliegenden Arbeit soll daher geklärt werden:

1. Einfluß sorbithaltiger Kost auf den Kariesbefall der Ratte.

2. Quantitative Veränderungen sorbitabbauender Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Sorbitkonzentration in der Kost und von der Zeit der Verabreichung.

3. Feststellung, ob sorbitabbauende Mikroorganismen zwar Säure produzieren, aber keine extrazellulären Polysaccharide synthetisieren können.

Die tierexperimentellen und mikrobiologischen Untersuchungen wurden als Teamarbeit an den gleichen Tieren vorgenommen (KATER 1970). Daraus erklärt sich, daß an verschiedenen Stellen auf diese Arbeit Bezug genommen wird und daß thematische Überschneidungen vorkommen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Kariesbefall im Tierexperiment bei sorbithaltiger Kost

In der experimentellen Kariesforschung hat sich besonders die Ratte neben dem Goldhamster als Versuchstier durchgesetzt, da sich bei ihr Karies kurzfristig erzeugen läßt und die auftretenden Läsionen histologisch und histochemisch mit der menschlichen Karies übereinstimmen. Zur Beantwortung der Frage der Kariogenität des Sorbit führten SHAW und GRIFFITHS (1960) an entwöhnten Ratten Versuche durch, in denen die Saccharose des kariogenen Futters durch unterschiedliche Anteile von Sorbit ersetzt worden war. Dabei wurden 20 % Sorbit in der Kost von den Tieren gut vertragen, während bei 45 % Sorbit 80 - 100 % der Versuchstiere gleich nach Versuchsbeginn starben. Im Vergleich zu den Kontrolltieren konnten bei steigendem Sorbitgehalt (20 und mehr %) weniger kariöse Läsionen in den Molaren festgestellt werden. Die Autoren sind daher der Ansicht, daß Sorbit den kariösen Zerstörungsprozeß nicht fördert und schlagen vor, Saccharose oder Glukose in Süßigkeiten durch Sorbit zu ersetzen.

Zu gegenteiligen Ergebnissen bezüglich einer Kariesreduktion durch Sorbit kamen KLEINER und KINKEL (1960) bei Untersuchungen an kariesanfälligen Wistarratten. Die Autoren verglichen dabei die Kariesfrequenz dieser Tiere, wenn ihnen Kostformen verabreicht wurden, bei denen entweder Rohrzucker oder Glukose durch Sorbit ersetzt wurde. Gleichzeitig prüften sie die Verträglichkeit des Sorbit. Es zeigte sich, daß die Sorbitverträglichkeit vom Alter der Tiere abhängig war. Außerdem mußte eine langsame Steigerung der Sorbitgaben erfolgen. Über eine Sorbitzulage von 20 % in der Kost konnte nicht hinausgegangen werden. Das Wachstum der Sorbit-Tiere war schlechter als das der Kontrolltiere mit Rohrzucker bzw.

Glukose in der Kost. Eine kariostatische Wirkung des Sorbit konnten die Autoren bei teilweisem Ersatz (20 %) von Rohrzucker bzw. Glukose nicht feststellen. Auch bei völligem Ersatz aller Kohlenhydrate durch den Zuckeralkohol Sorbit blieb der Kariesbefall unbeeinflußt.

Durch die Exstirpation der Speicheldrüsen und die damit künstlich herbeigeführte Xerostomie lassen sich die Einflüsse verschiedener Kostzusammensetzungen und damit die Frage einer eventuellen karieshemmenden Wirkung einer Substanz besonders gut prüfen. Die Entfernung der Speicheldrüsen bewirkte in allen Versuchen eine Erhöhung der Kariesfrequenz (WEISSBERGER et al. 1940, BIXLER et al. 1954, 1955, 1959, MUHLER u. SHAFER 1954, SCHWARTZ u. SHAW 1955, ROSEN et al. 1958, SHAW u. WOLLMAN 1958). Bei einseitiger Exstirpation stellten SCHWARTZ und SHAW (1955) nur auf dieser Seite eine deutliche Erhöhung der Zahl der kariösen Läsionen fest. Entspeichelte Tiere fressen zwar mehr und häufiger (ROSEN et al. 1959 a, SHAW u. WOLLMAN 1958), aber unter gleichen Bedingungen (gleiche Freßzeiten, gleiche aufgenommene Futtermengen) entstand auch bei desalivierten Ratten schneller und mehr Karies als bei den Kontrolltieren (ROSEN et al. 1959 b).

KLAPPER und VOLKER (1955) untersuchten in weiteren Tierexperimenten die Frage der Kariogenität des Sorbit an Hamstern, denen im Alter von 27 Tagen die submaxillären und sublingualen Speicheldrüsen entfernt und die Ohrspeicheldrüsenausführungsgänge unterbunden worden waren. Das Vollmilchpulver der Kontrollkost (96 %) wurde zu 20 % und zu 40 % durch Sorbit ersetzt. In den beiden Gruppen konnten die Autoren eine deutliche Reduktion des Kariesbefalls feststellen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (96 % Vollmilchpulver) sank die Kariesfrequenz bei 20 % Sorbit in der Nahrung um etwa ein Drittel, bei 40 % Sorbit um fast die Hälfte. Die Autoren schließen daraus, daß Sorbit keine oder nur

eine sehr geringe kariogene Wirksamkeit besitzt. Die aufgetretene Karies bei den entspeichelten Hamstern führen sie auf die Kariogenität der Laktose des Vollmilchpulvers zurück.

Diese Befunde konnten von EMSLIE und SINCLAIR (1961) durch Untersuchungen an desalivierten Albinoratten bestätigt werden. Für alle Tiere enthielt die Kost 67 % Kohlenhydrate, die bei einer Gruppe aus 50 % Saccharose und 50 % Stärke bestand, bei einer anderen Gruppe aus Sorbit für die anteilige Saccharose. Die unoperierte Kontrollgruppe erhielt als Kohlenhydrat nur Saccharose. Die histologische Kariesauswertung ergab, daß sich bei den entspeichelten Tieren, die Saccharose und Stärke erhalten hatten, hauptsächlich eine Fissurenkaries entwickelt hatte, während die Sorbitgruppe keine kariösen Läsionen aufwies.

2.2 Quantitative Veränderungen sorbitabbauender Mikroorganismen

Die Ergebnisse einer klinisch-bakteriologischen Untersuchung über die Rolle der Mundflora, die COX 1952 durchgeführt hat, gelten auch heute noch, nämlich daß "die Entstehung kariöser Kavitäten auf die Aktivität aller Mikroorganismen, die Säure bilden, zurückgeführt werden muß", und "daß die Säurebildungsrate das wichtigste Charakteristikum der Mikroorganismen hinsichtlich der Auflösung des anorganischen Anteils der Zahnhartsubstanzen ist". Neben der Identifizierung der Mundhöhlenflora (KRASSE 1953, 1954 a, 1954 b, HARRISON 1948, WILLIAMS et al. 1953) wurde auch der Abbau und die Säurebildung einzelner isolierter Bakterienstämme bei verschiedenen Substraten untersucht. GRUBB verglich 1945 die Abbaufähigkeit von Sorbit durch verschiedene Mundhöhlenkeime in Reinkultur (Lactobacillus acidophilus, Streptokokken, Hefen) und in Speichelproben mit der Spaltung üblicher Zucker

(Saccharose, Dextrose). Dabei stellte er fest, daß die verschiedenen Keimarten Sorbit stets langsamer abbauten als die beiden anderen zum Vergleich benutzten Zucker. Daher schlug GRUBB Sorbit als einen Zuckeraustauschstoff mit kariesprophylaktischer Wirkung in Lebensmitteln, Getränken und Süßigkeiten vor.

Der Abbau von Sorbit und Glukose durch Mundhöhlenbakterien, die aus kariösem Dentin und Speichelproben kariesanfälliger Personen isoliert worden waren, wurde auch von CROWLEY und Mitarbeitern (1956) in einem in vitro-Versuch nach verschiedener Bebrütungsdauer untersucht. Dabei wurde Sorbit von allen Mikroorganismen (Laktobazillen, Streptokokken, Staphylokokken, Hefen) wesentlich langsamer umgesetzt als die angebotene Glukose, aus der nach 24 Stunden alle untersuchten Bakterienstämme genügende Mengen Säure gebildet hatten, um den Zahnschmelz aufzulösen. Erst nach einer Woche sank der pH-Wert der Sorbit-Laktobazillus-Kulturen auf 5,1, bei welchem nach McINTOSH et al. (1922), STEPHAN (1940 u. 1944) und FOSDICK (1952) eine Entkalkung des Zahnschmelzes bereits einsetzt. Oral aufgenommenes Sorbit wird aber wahrscheinlich nie so lange in der Mundhöhle bleiben, daß dieser kritische pH-Wert erreicht werden kann.

Bei ähnlichen Untersuchungen konnten SHOCKLEY und Mitarbeiter (1956) feststellen, daß nur wenige der untersuchten Reinkulturen der mannigfaltigen Mundhöhlenflora, die aus Speichelproben isoliert worden waren, Sorbit abbauten, und auch dann war die Säureproduktion gering und erfolgte nur langsam. Außerdem mußten optimale Bedingungen wie ein nahezu neutraler pH-Wert, ein dauerndes Angebot von Sorbit und ein vollständiges Fehlen von Glukose bestehen. Der für die Demineralisation des Schmelzes als kritisch betrachtete pH-Wert wurde nicht erreicht. Die Autoren fanden weiterhin, daß die Mikroflora der Mundhöhle die Fähigkeit zum Sorbitabbau gar nicht oder nur sehr langsam erwirbt.

Mit Hilfe einer künstlichen Mundhöhle beobachtete KOULOURIDES (1963) eine sehr geringe Erweichung der Versuchszähne durch sorbithaltige Substrate. Die Säureproduktion war in den Sorbit-Speichel-Gemischen jedoch so minimal, daß der Autor einen Ersatz von Glukose bzw. Rohrzucker durch Sorbit in Süßigkeiten als eine vorteilhafte kariesprophylaktische Maßnahme ansieht.

In weiteren Versuchsreihen untersuchte SHAY (1954) die Säureproduktion in vivo im Speichel und in kariösen Läsionen nach Mundspülungen mit 2 %igen Rohrzucker-, Dextrose- und Sorbitlösungen nach zwei, zehn und zwanzig Minuten. Während nach Anwendung von Sorbitlösungen das pH nicht den zur Entkalkung des Zahnschmelzes als kritisch betrachteten Wert (5,7) erreichte, fiel das pH nach Spülungen mit Rohrzucker- und Dextroselösungen bereits nach zwei Minuten unter 5,5.

Neben den bisher erwähnten Untersuchungen über die Abbaufähigkeit von Sorbit durch Mikroorganismen der Mundhöhle und die Säureproduktion mit Hilfe von pH-Messungen untersuchte GÜLZOW (1968) den Abbau des Sorbit mit biochemischen Methoden. Die Ergebnisse der untersuchten Speichel- und Plaqueproben zeigten, daß Sorbit von der normalen Mundhöhlenflora zwar verzögert, aber langanhaltend und stetig abgebaut wird. GÜLZOW nimmt an, daß Mikroorganismen, die primär kein Sorbit umsetzen, die Fähigkeit erwerben können, den Zuckeralkohol Sorbit zu verwerten. Da in der Mundhöhle Sorbitreste vor allem an den Retentionsorten der Zähne liegenbleiben können und dort fortwährend zu Säure abgebaut werden können, erscheint es dem Autor fragwürdig, Sorbit als kariesprophylaktischen Zuckeraustauschstoff zu verwenden.

2.3 Synthese extrazellulärer Polysaccharide

Die Synthese extrazellulärer bzw. intrazellulärer Polysaccharide gewinnt als Faktor der Kariesätiologie immer mehr an Bedeutung (WOOD u. CRITCHLEY 1966, DAHLQVIST et al. 1967, CARLSON u. EGELBERG 1965, GEHRING 1968 a). Eine Reihe von Mundhöhlenbakterien besitzen die Fähigkeit, insbesondere aus Rohrzucker extrazelluläre Polysaccharide zu synthetisieren (WOOD u. CRITCHLEY 1966, GUGGENHEIM u. SCHROEDER 1967, GIBBONS u. BANGHART 1967, GEHRING 1968 a, 1968 b), die auf der Zahnoberfläche ein weitverzweigtes klebriges Netz bilden, wodurch die Plaquebildung gefördert und die Ansiedlung säureproduzierender, anaerober Mikroorganismen erleichtert wird (BRAMSTEDT 1967 a).

Die kariesätiologische Bedeutung der intrazellulären Polysaccharidbildung liegt darin, daß solche Substanzen als Reservekohlenhydrate dienen. Bei fehlender Zufuhr von Nahrungsstoffen können sie von den Zellen wieder mobilisiert und zu Säuren abgebaut werden. Dadurch kann unter den Plaques eine ziemlich kontinuierliche Säurewirkung auf die Zahnhartsubstanzen aufrecht erhalten werden.

In dem bisher veröffentlichten Schrifttum kommen die Autoren zu unterschiedlichen Ergebnissen. So konnte im Tierexperiment eine kariostatische Wirkung des Sorbit von verschiedenen Forschergruppen nachgewiesen werden (SHAW u. GRIFFITHS 1960, KLAPPER u. VOLKER 1955, EMSLIE u. SINCLAIR 1961), während andere (KLEINER u. KINKEL 1960) eine kariogene Wirkung feststellten. Ebenso differieren die Resultate über die Säureproduktion der Mikroorganismen der Mundhöhle, wenn sie Sorbit als Substrat erhalten. In der vorliegenden Arbeit soll daher versucht werden, zur Beantwortung der Frage einer möglichen nicht-kariogenen Wirkung des Sorbit durch Tierversuche an Ratten und gleichzeitige mikrobiologische Untersuchungen der Speichelflora beizutragen.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchstiere

Die Versuchsreihe wurde an männlichen Wistarratten durchgeführt. Die Tiere waren zu Versuchsbeginn 30 Tage alt, die Versuchsdauer betrug 84 Tage. Das Gewicht der Tiere ist aus Abb. 4 ersichtlich. Den Tieren von zwei Gruppen wurden zu Beginn die Parotis und die sublingualen und submaxillären Speicheldrüsen nach der von ROZEIK (1955) angegebenen Methode operativ entfernt.

3.2 Tierhaltung

Je zwei Tiere wurden in den üblichen Maschendrahtkäfigen gehalten. Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit waren weitgehend konstant. Die Gruppeneinteilung ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

TABELLE 1

Gruppeneinteilung

Gruppe	Kost	Speicheldrüsen-exstirpation
I	Grundkost (19) +)	-
II	50% Saccharose + 50% Grundkost (16)	-
III	Grundk. + steigende Mengen Saccharose (17)	-
IV	Grundk. + steigende Mengen Sorbit (17)	-
V	Grundk. + steigende Mengen Saccharose (19)	+
VI	Grundk. + steigende Mengen Sorbit (19)	+

+) Die eingeklammerten Zahlen bedeuten Anzahl Tiere pro Gruppe

3.3 Kostform und Trinkwasser

Die Grundkost bestand aus 70 % Haferflocken und 30 % Vollmilchpulver. Das Futter wurde mit einer elektrischen Mischmaschine zubereitet, um eine gleichmäßige Mischung zu erreichen. Einer Gruppe wurde eine kariogene Kost verabreicht, die aus 50 % Saccharose in Puderform und 50 % Grundfutter bestand. Für zwei Gruppen wurde die Grundkost mit Sorbit bzw. Saccharose in steigender Konzentration von 2,5 % angereichert bis insgesamt ein Gehalt von 30 % erreicht war. Die jeweils abgewogene Menge Sorbit bzw. Saccharose wurde mit der Grundkost in der gleichen Mischmaschine gut gemischt, so daß eine homogene Verteilung erreicht wurde. Alle Tiere erhielten als Trinkflüssigkeit Leitungswasser. Die Nahrungsaufnahme erfolgte ad libitum.

3.4 Versuchsanordnung

3.4.1 Versuchszeiten

Alle Tiere bekamen zu Beginn 3 Tage lang die Grundkost (70 % Haferflocken + 30 % Vollmilchpulver). Wegen der schlechten Verträglichkeit von höheren Sorbitmengen war eine langsame Steigerung des prozentualen Anteils notwendig (KLEINER u. KINKEL 1960, SHAW u. GRIFFITHS 1960, BÖHMER 1969). Der Steigerungsturnus von Sorbit bzw. Saccharose für die Gruppen III, IV, V und VI geht aus Tabelle 2 hervor. In der Kontrollgruppe I wurde die Grundkost weitergefüttert und Gruppe II bekam eine kariogene Kost (50 % Saccharose + 50 % Grundkost) bis Versuchsende.

TABELLE 2

Steigerung des prozentualen Anteils von Sorbit bzw. Saccharose für die Gruppen III - VI.

Tage	Kost	Gesamt%
1. - 3.	Grundkost	
4.	+ 2,5 %	2,5 %
5. - 6.		
7.	+ 2,5 %	5 %
8. - 13.		
14.	+ 2,5 %	7,5 %
15. - 16.		
17.	+ 2,5 %	10 %
18. - 23.		10 %
23.	1. Entnahme	
24.	+ 2,5 %	12,5 %
25. - 26.		
27.	+ 2,5 %	15 %
28. - 33.		
34.	+ 2,5 %	17,5 %
35. - 36.		
37.	+ 2,5 %	20 %
38. - 43.		
44.	+ 2,5 %	22,5 %
45. - 46.		
47.	+ 2,5 %	25 %
48. - 53.		
54.	+ 2,5 %	27,5 %
55. - 56.		
57.	+ 2,5 %	30 %
58. - 62.		30 %
63.	2. Entnahme	

3.4.2 Gruppeneinteilung

Die Tiere wurden so auf die einzelnen Gruppen verteilt, daß das durchschnittliche Körpergewicht zu Versuchsbeginn in allen Gruppen zwischen 50 - 60 g betrug. Außerdem wurde während der gesamten Versuchsdauer darauf geachtet, daß nur Tiere mit annähernd gleichem Körpergewicht zusammen in einem Käfig waren, um eine mögliche Selektion zu vermeiden, indem kräftigere Ratten schwächere Tiere an einer genügenden Nahrungsaufnahme hindern. Die entspeichelten Tiere bildeten eigene Gruppen.

3.5 Sorbitabbauende Mikroorganismen

3.5.1 Speichelentnahme

Bei einem Gehalt von 10 % und von 30 % Sorbit bzw. Saccharose in der Kost, d.h. entsprechend der sukzessiven Steigerung von Sorbit bzw. Saccharose 23 Tage und 63 Tage nach Versuchsbeginn, wurden jeweils dieselben Tiere (6 Tiere pro Gruppe) zur Speichel- und Plaqueentnahme (KATER 1970) herangezogen. Zur Entnahme wurden die Ratten mit Aether narkotisiert und auf einen nach ERAUSQUIN und MURUZABAL (1969) von mir modifizierten "verstellbaren Mundöffner und Wangenhalter" gelegt. Durch zwei bewegliche Drahtschlaufen, die um die Nagezähne gelegt werden, können die beiden Kiefer auseinandergehalten werden, während zwei zusätzliche in der Horizontalen und Vertikalen verstellbare Haken ein gleichzeitiges Abhalten der Wangen gestatten, so daß die Molaren gut zugänglich sind. Flügelschrauben halten Drahtschlaufe und Haken in der erwünschten Position fest (Abb. 1 und 2). Die Beweglichkeit der Drahtschlaufen und die zweidimensionale Verstellbarkeit der Haken gewährleisten eine Anpassung an die Größe der zu untersuchenden Tiere.

Mit Hilfe einer sterilen Coloriemetriepipette wurden 0,01 ml Speichel entnommen, nachdem den Tieren etwa eine Stunde zuvor das

Futter entzogen worden war (Abb. 3). Anschließend wurde die Speichelprobe in der Röhrchenteststreife weiterverarbeitet.

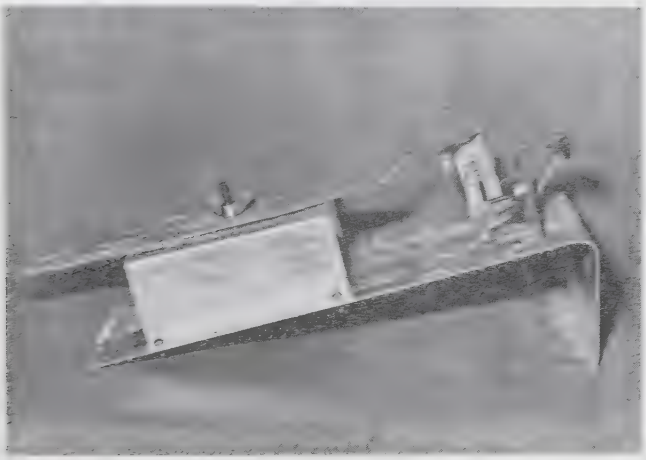


Abb. 1 Verstellbarer Mundöffner und Wangenhalter, Seitenansicht

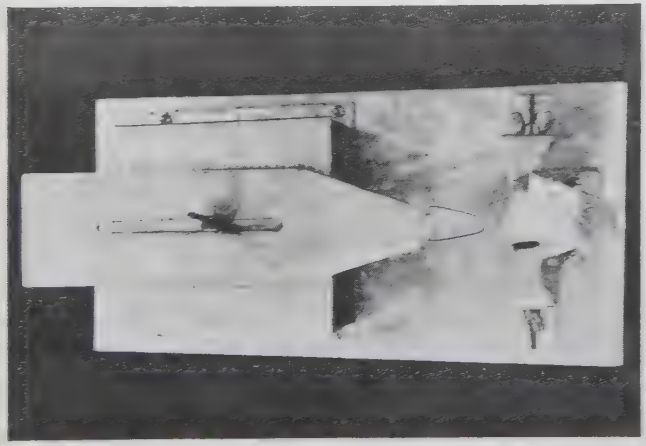


Abb. 2 Aufsicht

Abb. 3 Speichelentnahme

3.5.2 Röhrchentestreihe

Die mikrobiologische Untersuchung erfolgte mit Hilfe einer Röhrchentestreihe, die aus 5 Kulturröhrchen bestand (HARRIGAN u. McCANCE 1966). Bacto Phenol Red Broth Base (Difco Laboratories Detroit, Michigan 48201, USA) mit 1 % Sorbit (D-Sorbit, reinst, für die Bakteriologie von Merck) diente als Nährflüssigkeit. Als Ausgangslösung wurden jeweils 5 ml sterile Kochsalzlösung benutzt, mit der die entnommenen Speichelproben gut vermischt wurden. Die weiteren 5 Kulturröhrchen der Testreihe enthielten je 4,5 ml Nährbouillon, die bei 120°C und einem Überdruck von 1 atü 20 Minuten lang im Autoklaven sterilisiert worden war. Es wurden jeweils 0,5 ml mit einer sterilen Pipette von einem Röhrchen zum anderen übertragen, was einer 10fachen Verdünnung entsprach. Anschlie-

ßend wurden die beimpften Kulturröhrchen 96 Stunden lang bei 37°C bebrütet.

3.5.3 Nachweis der Synthese extrazellulärer Polysaccharide

Für den Nachweis einer Synthese extrazellulärer Polysaccharide durch sorbitabbauende Mikroorganismen im Speichel der Ratte wurden Platten mit einem Nährboden aus Bacto Phenol Red Agar Base (Difco) mit einem Zusatz von 5 % Saccharose (Merck) gegossen und autoklaviert. Von jeder Ausgangslösung der Röhrchentestreihe wurde ein Tropfen auf die Platten gebracht, ausgestrichen und anschließend 96 Stunden lang bei 37°C bebrütet.

3.5.4 Mikrobiologische Auswertung

Gleichzeitig mit der Untersuchung der Zahnplaques (KATER 1970) wurden auch die quantitativen Verhältnisse sorbitabbauender Mikroorganismen aus dem Speichel der Ratte geprüft. Als Kriterium für den Sorbitabbau unter Säurebildung wurde die Farbe des Indikators Phenolrot benutzt. War die Farbe nach 96stündiger Bebrütungsdauer bei 37° C von Rot (alkalisch) nach Gelb (sauer) umgeschlagen, so wurde auf das Vorhandensein sorbitabbauender Keime unter Säurebildung geschlossen. Das pH-Umschlagsintervall liegt bei Phenolrot zwischen pH 6,4 und pH 8,2 (RAUEN 1964).

Nach einer Bebrütungsdauer von 96 Stunden wurden die Röhrchen bei Tageslicht von zwei Untersuchern auf Farbumschläge hin geprüft. Dabei wurden eindeutige Farbumschläge nach Gelb bezüglich dem Vorhandensein sorbitabbauender Keime als positiv gewertet. Von der Anzahl der Proben, die ein Wachstum aufweisen, kann auf die Zahl der in der Ausgangslösung enthaltenen Mikroorganismen auf Grund der Verdünnungsreihe geschlossen werden (HARRIGAN u. McCANCE 1966). Ist z.B. der Indikator der ersten drei Röhrchen nach Gelb umgeschla-

gen, so kann man sagen, daß in 1 ml der Ausgangslösung mindestens 100 - aber höchstens 1000 sorbitabbauende Keime enthalten sind. Die Auswertung wurde auf die Angabe der Anzahl der Proben mit positivem Sorbitabbau unter eindeutiger Säureproduktion beschränkt.

Die Platten wurden unter einer binokularen Prismenlupe bei 40facher Vergrößerung im Auflicht auf die Bildung extrazellulärer Polysaccharide hin untersucht.

3.6 Kariesauswertung

3.6.1 Allgemeines

Für die Auswertung des Kariesbefalls stehen makroskopische und die mikroskopische Methode zur Verfügung. Während sich makroskopische Methoden, Verfahren ohne Herstellung von Schliffpräparaten, auf entstandene, klinisch sichtbare Kavitäten beschränken, erlaubt die mikroskopische Methode durch die Anfertigung von Serienschliffen eine Auswertung von initialen Läsionen bis zu Kavitäten (BÜTTNER et al. 1956). Dadurch ist eine Abstufung der Schweregrade des Kariesbefalls möglich. Zur Auswertung der eigenen Untersuchungen wurde die mikroskopische Methode nach KÖNIG et al. (1958) benutzt.

Die Autoren unterscheiden vier Schweregrade, die folgendermaßen definiert sind:

Stadium A : Farbreaktion auf den Schmelz beschränkt: Schmelzläsionen

Stadium T : Farbreaktion an der Schmelz-Dentingrenze: initiale Dentinläsionen

Stadium B : deutliche Farbreaktion im Dentin, meist halbmondförmige Ausbreitung: mittelschwere Dentinläsionen

Stadium C : größere Dentindefekte mit Abhebung des Schmelzes und beginnende Kavitation: ausgedehnte Dentinläsionen.

3.6.2 Herstellung der Serienschliffe

Die Kieferquadranten wurden zur Herstellung unentkalkter Serienschnitte in sagittaler Richtung mit Hilfe eines Apparates geschnitten, dessen Arbeitsweise im Prinzip auf die von JANSEN (1950) entwickelte Serienschliffmaschine zurückgeht. Das Verfahren beruht darauf, daß mit dem diamantbelegten Innenrand einer zentrisch ausgestanzten 0,08 mm dicken Phosphorbronzefolie in Trommelfellhalterung sagittale Serienschliffe hergestellt werden. Die mit Hilfe einer Schere herausgetrennten und von den Weichteilen abpräparierten Kieferquadranten der mit einer Überdosis Chloroform getöteten Tiere wurden auf einem Objekthalter, der mittels einer Mikrometerschraube in der Horizontalen verschoben werden kann, mit thermoplastischer Kerr-Abdruckmasse fixiert. Danach wurden alle drei Molaren gleichzeitig in sagittaler Richtung von bukkal nach lingual geschnitten. Bei einer Schliffdicke von etwa 0,03 mm konnten von einer Unterkieferhälfte eines jeden Tieres 4 - 6 Schnitte angefertigt werden, wobei die Schnittiefe so gewählt wurde, daß der Kiefer nicht in einzelne Schnitte auseinanderfallen konnte. Für die Auswertung wurde sich auf die Herstellung von Serienschliffen beider Unterkieferhälften eines Tieres beschränkt (KÖNIG 1966). Bis zur endgültigen Auswertung wurden die Schliffe in 4 %iger Formalinlösung aufbewahrt.

3.6.3 Anfärben der Schliffe

Die vorgeschnittenen, aber noch nicht endgültig durchtrennten Kieferquadranten wurden mit Aqua dest. gründlich gespült und etwa 12 Stunden an der Luft getrocknet. Anschließend wurden sie durch Auftropfen von Schiffreagens nach GRAUMANN 15 Sekunden lang angefärbt und danach unter fließendem Wasser abgespült. Die Farbreaktion kann auf Aldehydgruppen organischer Verbindungen zurückgeführt werden, die bei dem kariösen Zerstörungsprozeß frei werden. Kariöse Schmelz- und Dentinläsionen werden rot bis violett ange-

färbt, während gesunde Zahnhartsubstanzen ungefärbt bleiben. Unmittelbar nach dem Färben wurden die Schnitte mit einer Rasierklinge vom Alveolarknochen getrennt und in richtiger Reihenfolge, Fissur unter Fissur, auf einem Objektträger aufgereiht. Nach der Auswertung wurden die Schnitte mit einem vollkommen durchsichtigen Tesafilmstreifen fixiert.

3.6.4 Auswertung der Schliffe

Von jedem Tier einer Versuchsgruppe wurden die Läsionsgrade der insgesamt 12 Fissuren der rechten und linken Unterkiefermolaren ausgewertet. Die einzelnen Schliffpräparate wurden bei auffallendem Licht unter einer binokularen Prismenlupe bei 30facher Vergrößerung betrachtet. Der jeweils schwerste Läsionsgrad einer Fissur wurde in einem Auswertungsbogen notiert.

Bei der mikroskopischen Auswertungsmethode erhält man ein Bild des augenblicklichen Zustandes zum Zeitpunkt des Versuchsendes. Die kariösen Läsionen entwickeln sich in der Reihenfolge der angegebenen Schweregrade. Jedes auf dem Schliff diagnostizierte B-Stadium muß daher im Laufe des Versuches die beiden leichteren Stadien A und T durchlaufen haben. Deshalb gibt man insgesamt die "total durchlaufenen" Stadien an.

Zwei Untersucher werteten - unabhängig voneinander - die Schliffpräparate aus. Bei Differenzen in der Beurteilung einzelner Schweregrade wurde die Entscheidung anschließend gemeinsam gefällt.

3.7 Statistische Berechnungen

Nach der Formel $s = \sqrt{\frac{\Sigma(x-\bar{x})^2}{n}}$ wurde die Standardabweichung des Mittelwertes ($\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n}$) berechnet.

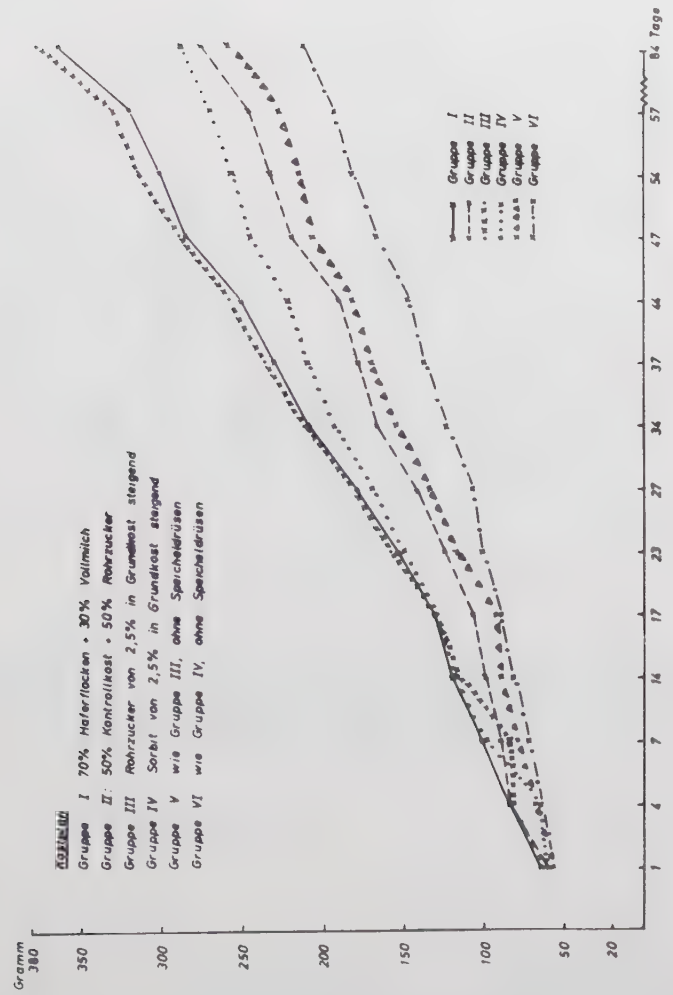
Die Signifikanz des Unterschiedes zweier Gruppen wurde nach dem STUDENT-t-Test bestimmt.

4. ERGEBNISSE

4.1 Wachstum der Tiere

Alle Tiere wurden an den Tagen gewogen, an denen eine Steigerung der Zusatzstoffe in der Kost vorgenommen wurde. Die durchschnittliche Gewichtszunahme geht aus Abb. 4 hervor. Die graphische Darstellung zeigt eine gleichmäßige Gewichtszunahme bei den Tieren der Kontrollgruppe (I) und denen der Gruppe III, die Saccharose in steigenden Mengen erhielten. Die Ratten, die mit kariogener Nahrung (50 % Saccharose) gefüttert wurden, nahmen zwar kontinuierlich, aber wesentlich schlechter zu, da die Kost ähnlich der STEPHAN-580-Kost keinen optimalen Nährwert bietet. Ihr Durchschnittsgewicht lag noch unter dem der Sorbit-Tiere (Gruppe IV, Sorbit in steigenden Anteilen), die sich anfänglich ähnlich den Kontrolltieren entwickelten, dann aber in der Gewichtszunahme etwas abfielen, was auf die laxierende Wirkung des Sorbit bei einem höheren Gehalt zurückzuführen ist. Erwartungsgemäß lag das durchschnittliche Körpergewicht der entspeichelten Ratten (Gruppe V und VI) während der ganzen Versuchsdauer unter dem Gewicht der übrigen Gruppen, dennoch nahmen die Tiere kontinuierlich zu (DALE 1948, BIXLER et al. 1955, SHAW u. WOLLMAN 1958).

Abb. 4 Durchschnittliche Zunahme des Körpergewichtes



4.2 Kariesauswertung

In Tabelle 3 und 4 sind die Daten der Kariesauswertung aufgeführt und in Abb. 5 graphisch dargestellt.

TABELLE 3

Kariesbefall bei der Ratte in Abhängigkeit von der Kost.

Gruppe	A	T	B	C[+)]
I	$7,1 \pm 2,50$	$2,3 \pm 2,34$	$1,1 \pm 1,77$	$0,1 \pm 0,43$
II	$10,0 \pm 1,93$	$8,4 \pm 2,19$	$6,5 \pm 3,60$	$4,8 \pm 3,42$
III	$9,0 \pm 1,79$	$3,2 \pm 2,28$	$0,9 \pm 1,25$	$0,2 \pm 0,51$
IV	$9,0 \pm 1,76$	$2,7 \pm 1,74$	$0,5 \pm 0,89$	$0,1 \pm 0,30$
V	$11,5 \pm 0,68$	$10,1 \pm 2,17$	$8,4 \pm 3,01$	$6,5 \pm 3,44$
VI	$11,6 \pm 0,56$	$9,9 \pm 2,02$	$7,0 \pm 2,41$	$4,7 \pm 2,35$

+) Mittelwert ($\bar{x} \pm s$) "total durchlaufener" Läsionsstadien pro Tier und Gruppe (Unterkiefermolaren)

TABELLE 4

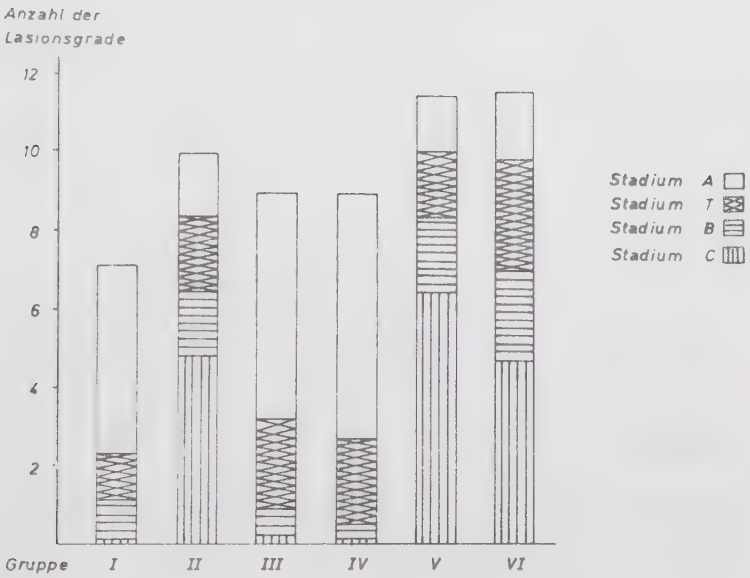
Kariesauswertung (Signifikanzberechnung)

	I				II				III				IV				V				VI			
	A	T	B	C	A	T	B	C	A	T	B	C	A	T	B	C	A	T	B	C	A	T	B	C[+)]
I					+	+	+	+	×				×				×				×			
II									×				×				×				×			
III													-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
IV																	+	+	+	+	+	+	+	+
V																					-	-	-	+
VI																								

+) + = signifikant - = nicht signifikant

×) Eine Signifikanzberechnung zwischen diesen Gruppen ist nicht möglich, da der STUDENT-t-Test nicht angewendet werden kann (siehe Seite 28).

Abb. 5 Kariesbefall bei der Ratte in Abhängigkeit von der Kost.



Gruppe I : 70% Haferflocken + 30% Vollmilchpulver
Gruppe II : 50% Kontrollkost + 50% Rohrzucker
Gruppe III : Rohrzucker von 2,5% in Grundkost, steigend
Gruppe IV : Sorbit von 2,5% in Grundkost, steigend
Gruppe V : Wie Gruppe III, ohne Speicheldrüsen
Gruppe VI : Wie Gruppe IV, ohne Speicheldrüsen

Gegenüber der Kontrollgruppe (I) weist die Gruppe II (50 % Saccharose + 50 % Grundkost) einen signifikant höheren Kariesbefall auf. Die Kariesfrequenz ist zwischen Gruppe III (Saccharose von 2,5 % bis 30 % steigend) und IV (Sorbit von 2,5 % bis 30 % ansteigend) in allen vier Stadien nicht signifikant unterschiedlich. In den Gruppen V und VI (Exstirpation der Speicheldrüsen) ist der Kariesbefall nur im C-Stadium signifikant geringer, nicht aber in den Stadien A, T und B.

4.3 Sorbitabbauende Mikroorganismen im Speichel der Ratte

In Abb. 6 ist die durchschnittliche Menge sorbitabbauender Mikroorganismen nach 96-stündiger Bebrütungsdauer bei 37°C bei einem Gehalt von 10 % Sorbit und von 30 % Sorbit in der Grundnahrung dargestellt.

In Tabelle 5 und 6 sind die Daten der mikrobiologischen Auswertung der Röhrchentestreihe aufgeführt.

Abb. 6 Anzahl sorbitabbauender Mikroorganismen bei 10 % und 30 % Sorbit in der Kost.
Anzahl der von Rot nach Gelb umgeschlagenen Proben.
6 Entnahmen/Gruppe.

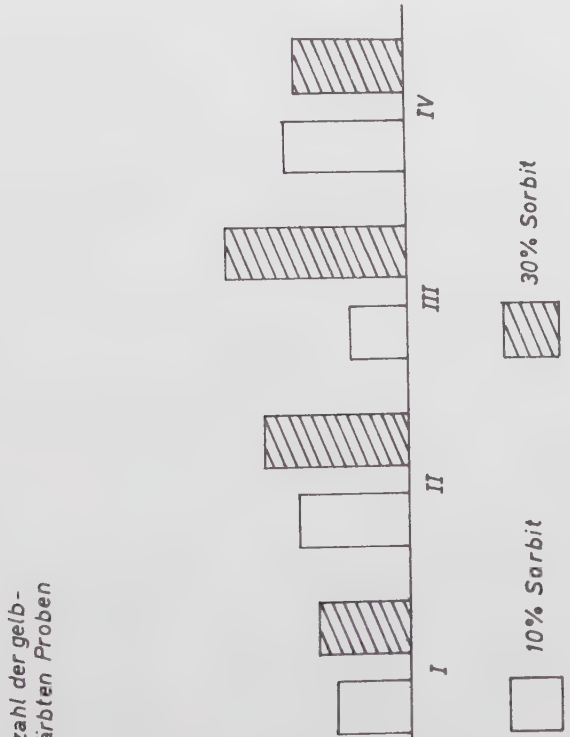


TABELLE 5

Anzahl der Proben, die bei 10 %igem Sorbitgehalt Wachstum unter Säurebildung aufwiesen.
(Mittelwerte ($\bar{x} \pm s$) der Anzahl der 6 Proben pro Gruppe, die Wachstum unter Säurebildung (= Sorbitabbau) aufwiesen)

Gruppe	Kost	Sorbitabbau
I	Grundkost	$0,66 \pm 0,038$
II	50 % Saccharose	$1,00 \pm 0,05$
III	2,5-30 % Saccharose	$0,50 \pm 1,25$
IV	2,5-30 % Sorbit	$1,10 \pm 0,08$

TABELLE 6

Anzahl der Proben, die bei 30 %igem Sorbitgehalt Sorbitabbau aufwiesen.
(Mittelwerte ($\bar{x} \pm s$) der Anzahl der 6 Proben pro Gruppe)

Gruppe	Kost	Sorbitabbau
I	Grundkost	$0,83 \pm 0,12$
II	50 % Saccharose	$1,30 \pm 0,18$
III	2,5-30 % Saccharose	$1,66 \pm 0,14$
IV	2,5-30 % Sorbit	$1,00 \pm 0,16$

Weder bei der ersten Entnahme (10 % Sorbit) noch bei der zweiten Entnahme (30 % Sorbit) konnte ein signifikanter Unterschied in der Säureproduktion (= Anzahl der Proben mit eindeutigem Farbumschlag nach Gelb) festgestellt werden. In den Gruppen I (Kontrolle), II (kariogene Kost mit 50 % Saccharose) und IV (Sorbit in steigenden Mengen) waren bei beiden Entnahmen Wachstum und Säureproduktion ziemlich gleich. Bei Gruppe III (Saccharose in steigenden Mengen) war die Menge säurebildender Mikroorganismen nach der zweiten Entnahme höher, aber ohne signifikanten Unterschied.

4.4 Synthese extrazellulärer Polysaccharide

Weder bei einem Gehalt von 10 % noch bei einem Anteil von 30 % Sorbit bzw. Saccharose in der Grundkost konnte auf einer Platte die Synthese extrazellulärer Polysaccharide durch sorbitabbauende Mikroorganismen im Speichel der Ratte beobachtet werden.

5. DISKUSSION

Von den verfütterten Kostformen erwies sich die Kontrollkost (70 % Haferflocken + 30 % Vollmilchpulver) als wenig kariogen. Daß trotz des Fehlens von Rohrzucker kariöse Läsionen aufgetreten sind, läßt sich durch die Kohlenhydratbestandteile (Laktose) des Vollmilchpulvers erklären. Wie erwartet war der Kariesbefall der Gruppe II (50 % Saccharose + 50 % Grundkost) in allen vier Läsionsstadien durchgehend signifikant höher als in der Kontrollgruppe (I). Dieses Ergebnis bestätigt die hohe Kariogenität des Rohrzuckers (MÜHLEMANN 1969). Um so erstaunlicher ist die Tatsache, daß in der Gruppe III mit 2,5 % bis 30 % steigendem Saccharosegehalt in der Grundkost dieser prozentuale Anteil während der Versuchszeit nicht ausgereicht hat, einen im Vergleich zur Kontrollgruppe (I) höheren Kariesbefall zu erzeugen. Auch war zwischen den Gruppen III (2,5 % bis 30 % ansteigender Saccharosegehalt) und IV (2,5 % bis 30 % steigender Sorbitgehalt) der Kariesbefall in allen vier Stadien nicht signifikant unterschiedlich, wenn auch zahlenmäßig etwas höher als in der Kontrollgruppe. Der Grund dafür ist vielleicht in der Versuchsdauer zu suchen, die zu kurz war, um deutlichere Unterschiede im Kariesbefall zu bewirken, denn im Vergleich zur Kontrollgruppe (I) und zur Gruppe II (50 % Saccharose während der gesamten Versuchszeit von 84 Tagen) wurden die erreichten 30 % Saccharose bzw. Sorbit nur kurze Zeit verabreicht (27 Tage). Daher sollten in späteren Versuchen die jeweils erreichten prozentualen Anteile genauso lange verabreicht werden wie die zur Kontrolle gegebene Kost. Daraus erklärt sich, daß eine Signifikanzberechnung nach dem STUDENT-t-Test zwischen der Kontrollgruppe und den Gruppen III, IV, V und VI (steigende Anteile Sorbit bzw. Saccharose) nicht zulässig ist, da wegen der schlechten Verträglichkeit höherer Sorbitkonzentration eine langsame Steigerung in

2,5 %-Intervallen erfolgen mußte und somit zwei Größen (Futterzusammensetzung und Zeit) geändert worden sind. Unter extremen Bedingungen (künstliche Xerostomie durch Exstirpation der Speicheldrüsen) genügen jedenfalls niedrige Saccharosekonzentrationen in der Kost, um in kurzer Zeit einen deutlich höheren Kariesbefall zu erzeugen (Gruppe V, Exstirpation, Saccharose steigend bis 30 %). Dies konnte auch in der Gruppe VI (Exstirpation, Sorbit bis 30 % ansteigend) festgestellt werden. Obgleich die Läsionsstadien A, T und B nicht signifikant unterschiedlich waren, lief möglicherweise bei Sorbitverabreichung der kariöse Zerstörungsprozeß langsamer ab als bei Saccharoseverfütterung, denn nur im schwersten Stadium (C-Stadium) bestand bei Versuchsende ein signifikant geringerer Kariesbefall, der sich wahrscheinlich bei längerer Versuchsdauer angeglichen hätte. Das Ergebnis der Kariesauswertung dieser beiden Gruppen zeigt deutlich, daß auch bei anteiligem Sorbit in der Nahrung unter besonderen Bedingungen ein beträchtlicher Kariesanstieg zu verzeichnen ist, der etwa der Stärke des Kariesbefalls bei Saccharoseverabreichung entspricht. Sorbitverfütterung birgt also unter diesen Bedingungen genau wie Saccharosegaben die Gefahr der Kariesentstehung in sich.

Wie die vorliegenden Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen zeigen, ergaben sich bezüglich der Zunahme sorbitabbauender Mikroorganismen im Speichel der Ratte bei beiden Entnahmen (10 % und 30 % Sorbit- bzw. Saccharosegehalt) keine signifikanten Unterschiede. Die Anzahl säurebildender Keime erhöhte sich bei der zweiten Entnahme geringfügig in den Gruppen I (Kontrolle) und II (50 % Saccharose), während in der dritten Gruppe (Saccharose steigend) bei der zweiten Entnahme die höchsten Werte erreicht wurden. Der Unterschied zeigt im Vergleich zur Gruppe II, daß langsame Steigerung bis 30 % Saccharose für die Bakterienflora bessere Lebensbedingungen darstellen als die sofortige Gabe von 50 % Saccharose, da

hier mit einer gewissen Hemmung zu rechnen ist. Die ziemlich gleichen Ergebnisse in Gruppe IV beider Entnahmen deuten darauf hin, daß zumindest im Speichel der Ratte bei einem höheren Sorbitangebot die Säureproduktion der Mikroorganismen nicht erhöht wird. In einem Vergleich zu Gruppe V und VI (Exstirpation der Speicheldrüsen) kommt die Spül- und Pufferfunktion des Speichels deutlich zum Ausdruck. Beide Gruppen weisen den höchsten Kariesbefall auf, da hier durch die künstliche Xerostomie für die Plaquebildung und damit die Säureproduktion günstigere Bedingungen bestanden (KATER 1970). Die Synthese extrazellulärer Polysaccharide, wie sie bei bestimmten Bakterienstämmen auf 5 % Saccharose enthaltenden festen Nährböden in auffälliger Weise (GEHRING 1968) erfolgt, konnte durch sorbitabbauende Mikroorganismen aus Speichel und Plaque (KATER 1970) der Ratte nicht nachgewiesen werden. Daß bei Sorbitangebot diese Polysaccharide nicht gebildet werden, dürfte für die Kariesätiologie insofern von Bedeutung sein, als damit die Förderung der Plaquebildung entfällt, wie sie bei Gaben von Saccharose eintritt, da die Haftfähigkeit an der Zahnoberfläche eingeschränkt ist, wodurch die Ansiedlung säureproduzierender, anaerober Mikroorganismen erschwert wird. Aber auch in den Saccharosegruppen (II, III, V) konnten diese extrazelluläre Polysaccharide bildenden Keime nicht nachgewiesen werden.

Aus dem bisher veröffentlichten Schrifttum geht hervor, daß Sorbit langsamer abgebaut wird als Saccharose oder Glukose (GRUBB 1945, CROWLEY 1956, GÜLZOW 1968) und daß der kritische pH-Wert von 5, 7 nicht (SHAY 1954, SHOCKLEY et al. 1956, GRAF 1969, MÜHLEMANN 1969) oder erst nach langer Zeit (CROWLEY 1956) erreicht wird. Andererseits konnten aber bei sorbitabbauenden Streptokokkenkeimen in 1 % Sorbit enthaltenden Nährlösungen nach 2 - 3-tägiger Bebrütung End-pH-Werte von 4, 5 bzw. 4, 45 nachgewiesen werden (GEHRING 1968). In den Untersuchungen, in denen

mit Sorbit keine oder nur geringe Säureproduktion durch Speichelmikroorganismen festgestellt werden konnte, waren die Kontakt- und Meßzeiten relativ kurz angesetzt. Auch GÜLZOW (1968) konnte bei der Untersuchung von Speichelproben nach der manometrischen Warburg-Methode zeigen, daß der Zeitfaktor für den Sorbitabbau und damit die Säureproduktion eine wichtige Rolle spielt. In der vorliegenden Versuchsanordnung wurde ebenfalls eine lange Bebrütungszeit von 96 Stunden gewählt, da festgestellt werden konnte, daß erst nach dieser Inkubationszeit die Säureproduktion abgeschlossen war. Bei der Ratte ist nun durch die Stellung der Zähne und durch fehlende Mundhygiene die Plaquebildung begünstigt. Dadurch bleibt für die Mikroflora das Substrat Sorbit auch über längere Zeit zur Verfügung, so daß eine genügende Säureproduktion stattfinden kann, um den Zahnschmelz anzugreifen. Das zeigt sich deutlich bei den Tieren mit künstlicher Xerostomie. Wenn der Zuckeralkohol Sorbit lange genug in der Mundhöhle verweilt, dann tritt auch eine Säureproduktion ein. Die nicht signifikanten Unterschiede zwischen den Saccharose- und Sorbitgruppen zeigen auch, daß Sorbit sowohl für die Säureproduktion im Speichel der Ratte als auch für den Kariesbefall keinesfalls gefährlicher ist als Saccharose, daß aber auch zumindest in der vorliegenden Versuchsanordnung eine mögliche "kariostatische" Wirkung des Sorbit nicht nachgewiesen werden konnte.

Bevor eine Substanz als Zuckeraustauschstoff im Sinne einer kariesprophylaktischen Maßnahme benutzt wird, sollte das Fertigprodukt "unter den Bedingungen des Schleckens und Kauens" geprüft werden (MÜHLEMANN 1969). Als Kriterium dafür, ob ein Produkt als "zahnschonend" zu bezeichnen ist, schlägt MÜHLEMANN (1969) die Messung des pH-Wertes in situ während und nach dem Genuß des zu prüfenden Produktes vor. Erst wenn unter diesen "natürlichen" Bedingungen das pH in den Zahnplaques nicht unter den kritischen Wert von 5,7 sinkt, sollte ein Produkt als "zahnschonend" dekla-

riert werden. Die zur Zeit aussichtsreichste Methode zur pH-Bestimmung in den Zahnplaques als Maß für die Säurebildung und damit die Kariogenität einer Substanz ist die pH-Telemetrie. Mit Hilfe dieser radiotelemetrischen Methode kann das pH in natürlich gewachsenen Plaques unter physiologischen Bedingungen gemessen werden, ohne daß dabei der Meßvorgang einen wesentlichen Störfaktor darstellt (GRAF 1969). In einer solchen Versuchsreihe prüfte GRAF (1969) auch den pH-Abfall während des Lutschens von Sorbitbonbons und während Sorbitspülungen. Dabei stellte er fest, daß der fermentative Abbau von Sorbit quantitativ nicht zur pH-Senkung genügt, was er auf einen langsamen Abbauvorgang zurückführt. Auch MÜHLEMANN (1969) berichtet von Tests, in denen telemetrisch die Wirkung von Mundspülungen mit 10 %iger Sorbitlösung und von kaubaren Sorbitbonbons auf das Plaque-pH geprüft wurde, daß in keinem Fall während und bis 30 - 60 Minuten nach Beendigung des Kauens eine pH-Erniedrigung in den kritischen Bereichen festzustellen war. Unter "normalen" Bedingungen reicht also die Säureproduktion sorbitabbauender Mikroorganismen in dieser Zeitspanne nicht aus, um einen pH-Abfall und somit einen Angriff auf die Zahnhartsubstanzen herbeizuführen.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit zeigen aber auch, daß durch Sorbitverabreichung unter extremen Bedingungen genauso viel Karies entsteht wie durch Saccharosegaben, wenn auch vielleicht etwas langsamer (Kariesbefall Gruppen V und VI). Sorbit scheint jedoch unter den gegebenen Versuchsbedingungen den kariösen Zerstörungsprozeß nicht zu fördern. Auf den Menschen übertragen bedeutet es, daß Sorbit bei "normaler" Mundhygiene wahrscheinlich nicht so lange in der Mundhöhle bleiben wird bis die Mikroorganismen, bedingt durch den langsamen Abbau, genügend Säure zur Demineralisation produzieren können, wie die Untersuchungen von GRAF (1969) und MÜHLEMANN (1969) zeigen. Außerdem entfällt

die Synthese extrazellulärer Polysaccharide. Wenn Sorbit auch durchaus eine kariogene Wirkung entfalten kann, so dürfte es für die Kariesentstehung beim Menschen weniger gefährlich sein als Saccharose.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Im Tierexperiment wurde geprüft, ob nach Ersatz von Saccharose durch Sorbit in der Kost eine geringere Kariesfrequenz nachweisbar ist, oder ob die Anzahl sorbitabbauender Mikroorganismen im Speichel bei Angebot von Sorbit in der Nahrung steigt und somit dieser Faktor die Möglichkeit eines erhöhten Kariesbefalls in sich birgt.

Gruppen entwöhnter Wistarratten erhielten über einen Zeitraum von 84 Tagen: (I) wenig kariogene Grundkost (70 % Haferflocken + 30 % Vollmilchpulver), (II) 50 % Grundkost + 50 % Saccharose, (III, V) Saccharose in sukzessiv ansteigenden Konzentrationen von 2,5 % bis 30 % in der Grundkost, (IV, VI) Sorbit parallel zu Gruppe III und V in steigenden Anteilen von 2,5 % bis 30 % in der Grundkost. Gruppe V und VI bestand aus entspeichelten Tieren, die in ansteigenden Konzentrationen (2,5 % bis 30 %) entweder Sorbit oder Saccharose erhielten.

Alle Sorbit-Tiere zeigten eine geringere Gewichtszunahme als die Kontrollgruppe. Der höchste Kariesbefall (4,8 C-Stadien) wurde bei der Gruppe II mit 50 % Saccharose festgestellt, ein wesentlich geringerer Befall bei den Saccharose-Tieren mit 2,5 % bis 30 % (0,2 C-Stadien) und den Sorbit-Tieren mit 2,5 % bis 30 % (0,1 C-Stadien), der die ebenfalls geringe Kariesfrequenz (0,1 C-Stadien) der Kontrolltiere, die 70 % Haferflocken und 30 % Vollmilchpulver erhalten hatten, nicht überstieg. Bei den entspeichelten Tieren lag der Kariesbefall in der Saccharosegruppe mit 2,5 % bis 30 % mit 6,5 C-Stadien über dem der Sorbit-Tiere (4,7 C-Stadien). Die Menge säurebildender Mikroorganismen im Speichel der Ratte war bei 10 % und 30 % Sorbit bzw. Saccharose in der Nahrung ohne signifikant höheren Unterschied. Die Synthese extrazellulärer Polysaccharide konnte nicht nachgewiesen werden.

Aus den vorliegenden Versuchsergebnissen kann gefolgert werden, daß sich bei der Ratte durch die Verabreichung von sorbithaltiger Kost die sorbitabbauende Mikroflora im Speichel nicht signifikant ändert.

SUMMARY

THE INFLUENCE OF DIETARY SORBITOL ON CARIES INCIDENCE AND ON QUANTITATIVE CHANGES IN SORBITOL DEGRADATING MICROORGANISMS IN THE SALIVA OF THE RAT.

The effect of gradually increasing the amount of sucrose (saccharose) or sorbitol in the diet of rats was studied with regard to caries experience and quantity of sorbitol degradating microorganisms in saliva.

Weanling Wistar rats (20 animals/group) received over a period of 84 days: (I) low cariogenic basic diet (70 % oat flakes, 30 % whole milk powder); (II) 50 % basic diet, 50 % sucrose (confectionery); (III, V) sucrose in successively increasing concentrations from 2.5 % to 30 % in the basic diet; (IV, VI) sorbitol parallel to groups III and V in increasing concentrations from 2.5 % to 30 % in the basic diet. Desalivation was carried out in group V- and VI-animals at the start of the experiment. It was found:

(1) Weight gain was retarded in all rats receiving sorbitol.

(2) The caries scores (dentinal C-lesions with cavitation were as follows: 50 % sucrose-animals, 4.8; sucrose-animals 2.5 % - 30 %, 0.2; sorbitol-animals 2.5 % - 30 %, 0.1; control-animals on basic diet, 0.1. Desalivated rats on sucrose 2.5 % - 30 % and sorbitol 2.5 % - 30 % had caries scores of 6.5 and 4.7 C-lesions, respectively.

(3) Increasing the sucrose or the sorbitol from 10 % to 30 % in the diet did not significantly increase the amount of sorbitol degradating microorganisms in saliva. A synthesis of extracellular polysaccharides was not detectable.

Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Büttner sei Dank gesagt für die Überlassung des Themas und für die Übernahme des Referates.

Herrn Professor Dr. F. Bramstedt danke ich für die in den Laboratorien gegebene Arbeitsmöglichkeit und für die Übernahme des Korreferates.

Ich danke Frau Dr. E. Karle für ihre Hilfe bei den Tierexperimenten und Herrn Dr. F. Gehring für seine Unterstützung bei dem mikrobiologischen Teil der Arbeit.

7. LITERATURVERZEICHNIS

BIXLER, D., J.C. MUHLER, W.G. SHAFER: Experimental dental caries. V. The effects of desalivation on caries and fluorine storage in the rat.
J. Nutrition 52, 345 (1954)

BIXLER, D., J.C. MUHLER, W.G. SHAFER: The effect of castration, sex-hormones and desalivation on dental caries in the rat.
J.dent. Res. 34, 889 (1955)

BIXLER, D., J.C. MUHLER, W.G. SHAFER: Food consumption and dental caries in salivariadenectomized and duct-ligated rats.
J. dent. Res. 38, 1235 (1959)

BÖHMER, U.: Die Wirkung sorbithaltiger Süßwaren auf den Kariesbefall bei der Ratte.
Med. Diss. Würzburg 1969

BRAMSTEDT, F.: Bedeutung der Zucker als kariogene Substanzen.
Ernährungsumschau 14, 275 (1967)

BRAMSTEDT, F.: Die Bedeutung der Kohlenhydrate für die Entstehung der Zahnkaries.
Die Therapiewoche 18, 1394 (1968 a)

BRAMSTEDT, F.: Die Polysaccharidsynthese durch Plaquestreptokokken als kariesätiologisch wichtiger Faktor.
Dtsch. Zahnärztebl. 22, 563 (1968 b)

BÜTTNER, W., H.D. CREMER, M. HERRMANN: Ernährungsfaktoren bei Zahn- und Knochenbildung. V. Kariesdiagnostik an Zahnschliffen bei der Ratte.
Dtsch. zahnärztl. Z. 11, 984 (1956)

CARLSON, J., J. EGELBERG: Effect of diet on early plaque formation in man.
Odont. Revy 16, 112 (1965)

COX, G.J.: Experimental dental caries in animals. In TOVERUD G. et al. A survey of the literature of dental caries.
National Research Council, Publication Nr. 225, Washington, D.C., p.55. Zitiert nach: KÖNIG, K.G.: Möglichkeiten der Kariesprophylaxe.
Verlag Hans Huber Bern und Stuttgart (1966)

CROWLEY, M.C., V. HARNER, A.S. BENNET, P. JAY: Comparative fermentability of sorbitol, glucose and glycerol by common oral microorganisms.
J. Amer. dent. Ass. 52, 148 (1956)

DAHLQVIST, A., B. KRASSE, J. OLSSON, S. GARDELL: Extracellular polysaccharides formed by caries inducing streptococci.
Helv. odont. Acta 11, 15 (1967)

DALE, P.P.: Caries studies in desalivated rats receiving iodoacetic acid parenterally.
J. dent. Res. 27, 757 (1948)

EMSLIE, R.D., L. SINCLAIR: Effect on dental caries of sorbitol in the diet of sialoadenectomized rats.
J. dent. Res. 40, 1283 (1961)

ERAUSQUIN, J., M. MURUZABAL: A method for root canal treatment in the molar of the rat.
Oral Surg. 24, 540 (1969)

FOSDICK, L.S.: Some new concepts concerning the role of sugar in dental caries.
Oral Surg. 5, 615 (1952)

GEHRING, F.: Über das Wachstum einiger Zahnplaquestreptokokken in flüssigen Nährmedien mit verschiedener Zuckerkonzentration.
Dtsch. zahnärztl. Z. 23, 914 (1968)

GEHRING, F.: Zum Sorbitabbau durch Streptokokken unter besonderer Berücksichtigung der Mundflora.
Dtsch. zahnärztl. Z. 23, 810 (1968 a)

GIBBONS, R.J., S.B. BANGHART: Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human plaque.
Arch. oral Biol. 12, 11 (1967)

GRAF, H.: Telemetrie des pH der Interdentalplaque.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 79, 146 (1969)

GRUBB, T.C.: Studies in fermentation of sorbitol by oral microorganisms.
J. dent. Res. 24, 31 (1945)

GÜLZOW, H.-J.: Vergleichende biochemische Untersuchungen über den Abbau von Sorbit durch Mikroorganismen der Mundhöhle.
Carl Hanser Verlag München (1968)

GUGGENHEIM, B., H.E. SCHROEDER: Biochemical and morphological aspects of extracellular polysaccharides produced by cariogenic streptococci.
Helv. odont. Acta 11, 131 (1967)

HARRIGAN, W.F., M.E. McCANCE: Laboratory Methods in Microbiology.
Academic Press London and New York 1966

HARRISON, R.W.: Lactobacilli versus streptococci in the etiology of dental caries.
J. Amer. dent. Ass. 37, 391 (1948)

JANSEN, M.T.: An improved method for the preparation of "serial" sections of undecalcified dental tissues.
J. dent. Res. 29, 401 (1950)

KATER, H.-J.: Über den Einfluß sorbithaltiger Kost auf den Kariesbefall und auf quantitative Veränderungen sorbitabbauender Mikroorganismen im Plaque der Ratte.
Med. Diss. Würzburg 1970

KLAPPER, C.E., J.F. VOLKER: The effect of powdered whole milk-sorbitol diets on dental caries in desalivated hamsters.
J. dent. Res. 34, 704 (1955)

KLEINER, F.W., H.-J. KINKEL: Ernährungsfaktoren bei Zahn- und Knochenbildung. VIII. Die Verträglichkeit von Sorbit und seine Wirkung auf die Zahnkaries bei der Albinoratte.
Dtsch. zahnärztl. Z. 15, 664 (1960)

KÖNIG, K.G., Th.M. MARTHALER, H.R. MÜHLEMANN: Methodik der kurzfristig erzeugten Rattenkaries.
Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 29, 99 (1958)

KÖNIG, K.G.: Möglichkeiten der Kariesprophylaxe beim Menschen und ihre Untersuchung im kurzfristigen Rattenexperiment.
Verlag Hans Huber Bern und Stuttgart 1966

KOULOURIDES, T.: Effects of the presence of sorbitol and 3-methylglucose on the softening rates of teeth in the artificial mouth.
Ala. dent. Rev. 11, 10 (1963)

KRASSE, B.: The proportional distribution of different types of streptococci in saliva and plaque material.
Odont. Revy 4, 304 (1953)

KRASSE, B.: Studies on acidogenic micro-organisms in the mouth. With special reverence to dental caries activity.
Acta odont. scand. 12, suppl. 14 (1954 a)

KRASSE, B.: Relationship between lactobacilli, candida and streptococci and dental caries. Examination of saliva and plaque material collected on the same occasion.
Odont. Revy 5, 241 (1954 b)

McINTOSH, J., W.W. JAMES, P. LAZARUS-BARLOW: An investigation into the etiology of dental caries. I. The nature of the destructive agent and the production of artificial caries.
Brit. J. exp. Path. 3, 138 (1922)

MÜHLEMANN, H.R.: Zuckerfreie, zahnschonende und nicht-kariogene Bonbons und Süßigkeiten.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 79, 117 (1969)

MUHLER, J.C., W.G. SHAFER: Experimental dental caries. II. Effect of desalivation on dental caries and castration and desalivation on fluorine storage in the rat.
J. dent. Res. 33, 346 (1954)

RAUEN, H.M.: Biochemisches Taschenbuch. Zweiter Teil.
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York 1964

ROSEN, S., L.M. SREEBNY, C.A. HOPPERT, H.R. HUNT, E. BACHEM: Studies of salivariadenectomized HUNT-HOPPERT caries resistant and caries susceptible rats. I. Effect of salivariadenectomy on dental caries and serveral groups of the oral microflora.
J. dent. Res. 37, 824 (1958)

ROSEN, S., L.M. SREEBNY, H.R. HUNT, C.A. HOPPERT, E. BACHEM: Studies on salivariadenectomized HUNT-HOPPERT caries resistant and caries susceptible rats. II. Influence of salivariadenectomy on rate of food consumption.
J. dent. Res. 38, 177 (1959 a)

ROSEN, S., L.M. SREEBNY, C.A. HOPPERT, H.R. HUNT, E. BACHEM: Studies on salivariadenectomized HUNT-HOPPERT caries resistant and caries susceptible rats. III. Effect of salivariadenectomy on dental caries and several groups of the oral microflora under controlled feeding conditions.
J. dent. Res. 38, 587 (1959 b)

ROZEIK, F.: Exstirpation der Speicheldrüsen bei der Ratte.
Zahnärztl. Reform 3/4, 76 (1955)

SCHRAMM, G.: Sorbit in der Medizin.
Wiss. Berichte E. Merck AG, Darmstadt (1963)

SCHWARTZ, A., J.H. SHAW: Studies on the effect of selective desalivation on dental caries incidence of albino rats.
J. dent. Res. 34, 239 (1955)

SHAW, J.H., D. GRIFFITHS: Partial substitution of hexitols for sucrose and dextrin in caries producing diets.
J. dent. Res. 39, 377 (1960)

SHAW, J.H., D.H. WOLLMAN: The influence of sialoadenectomy in rats on food and water consumption.
J. dent. Res. 37, 805 (1958)

SHAY, D.E.: The in vivo fermentability of sugars and polyhydric alcohols in carious lesions.
J. dent. Res. 33, 717 (1954)

SHOCKLEY, T.M., C.I. RANDLES, M.C. DODD: The fermentation of sorbitol by certain acidogenic oral micro-organisms.
J. dent. Res. 35, 233 (1956)

STEPHAN, R.M.: Changes in hydrogen-ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions.
J. Amer. dent. Ass. 27, 718 (1940)

STEPHAN, R.M.: Intra-oral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activity.
J. dent. Res. 23, 257 (1944)

WEISBERGER, D., C.T. NELSON, P. E. BOYLE: The development of caries in the teeth of albino rats following exstirpation of the salivary glands.
Amer. J. Orthodont. 26, 88 (1940)

WILLIAMS, N.B., C.F. EICKENBERG, B.M. FLOREY: A preliminary report on quantitative interrelationship of microorganisms cultivable from saliva.
J. dent. Res. 32, 691 (1953)

WOOD, J.M., P. CRITCHLEY: The extracellular polysaccharide produced from sucrose by a cariogenic streptococcus.
Arch. oral Biol. 11, 1139 (1966)

Lebenslauf

Am 2.2.1945 wurde ich, Paul-Thomas Schneider, als Sohn des Facharztes Dr. med. Karl Schneider und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Heinicke, in Erfurt geboren. Im gleichen Jahr siedelten wir nach Schenklengsfeld (Kreis Hersfeld) über und wohnen seit 1947 in Bad Hersfeld. Nach vierjährigem Volksschulbesuch trat ich 1951 in das Gymnasium "Alte Klosterschule" in Bad Hersfeld ein, an dem ich 1964 die Reifeprüfung bestand. Das Studium der Zahnmedizin begann ich im SS 1964 an der Universität Würzburg, wo ich im SS 1967 die zahnärztliche Vorprüfung ablegte. Die vorliegende Arbeit wurde im WS 1968/69 und im SS 1969 angefertigt. Im SS 1970 bestand ich an der Universität Würzburg die zahnärztliche Prüfung.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsmittel benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Paul-Thomas Schneider

VERVIELFÄLTIGUNG
E. Schmitt u. M. Meyer
Würzburg
Alte Kasernstraße 7
Tel. 591374

VERVIELFÄLTIGUNG
E. Schmitt u. M. Meyer
Würzburg
Alte Kasernstraße 7
Tel. 591374